取 扱 説 明 書

ヒト頭髪毛乳頭細胞
Human Follicle Dermal Papilla Cells (HFDPC)
(Code No. CA60205a)

このたびは、ヒト頭髪毛乳頭細胞をお買い上げ頂き有り難うございます。
皆様の研究に有効にお使い頂くために、本取扱説明書を、ご使用前に必ずお読み下さい。

＜ご注意＞
本製品の使用は研究用に限定されています。ヒトまたは動物への適用及び臨床診断用への使用はできません。

1. 本細胞について

ヒト頭髪毛乳頭細胞（以下HFDPCと略）は 健常人ヒト頭部毛髪由来の毛乳頭から分離培養した毛乳頭細胞です。近年の研究から、毛乳頭は毛の形成、成長に深く関与していることが知られており、本細胞は医薬品・育毛剤の効果試験、安全性試験、薬理試験、育毛・発毛の研究等にご利用できます。本細胞は増殖性試験を行い、基準に達したものを出荷致しております。本製品は2-3継代目の細胞を凍結状態で出荷致しており、到着後、2～3継代の培養が可能です。実験にはなるべく若い継代数のものをお使い下さい。本製品はHBV、HCV、HIVについてはウイルス検査を行い、混入否定を確認しておりますが、ヒト由来ですので細胞の取り扱いには十分にご注意下さい。

2. 製品内容

ヒト頭髪毛乳頭細胞（HFDPC） 凍結バイアル 1本 （5×10^5 cells）

【関連商品のご紹介】

品名及び内容	包装	Code No.
毛乳頭細胞増殖培地（基礎培地，添加剤） PCGM	250ml	TMTPGM-250
サブカルチャー試薬セット（ﾊﾝｸｽ平衡緩衝塩溶液、ﾄﾘﾌﾟｼﾝ-EDTA 溶液、ﾄﾘﾌﾟｼﾝ中和液）	1set	CA090K
コラーゲンコート溶液	50ml×2	TMTCC-050

3. 製品の受入と保存

細胞は凍結状態(−80℃)で、5x10^{5}cell/バイアルを1本出荷しております。到着後すぐご使用になられない場合は、直ちに液体窒素中に保存してください。異常がある場合には東洋紡(株)ライフサイエンス事業部(大阪:06-6348-3786、東京:03-6422-4819)までご連絡下さい。

4. 培養の準備

HFDPCを培養する際は、下記要領に従い、コラーゲンコート溶液にてフラスコのコーティング処理を行って下さい。コラーゲンコートにより細胞のフラスコへの接着が向上します。なお、市販のコラーゲンコート培養フラスコをお使い頂く場合は以下の操作は不要です。

① コラーゲンコート溶液を穏やかに撹拌し、均質な溶液とする。
② クリーンベンチ内でフラスコにコラーゲンコート溶液を約 1ml/10cm^2 となるように加え、フラスコ培養面全体に液が広がるようにフラスコを静かに揺らす。
③ 室温で 30 分～2 時間、静置する。
④ クリーンベンチ内でコラーゲンコート溶液を吸引除去する。
⑤ PBS を約 1ml/10cm^2 となるように入れ、フラスコ培養面を洗い、吸引除去する。この洗浄操作をさらに2回行う。

最後に PBS を全て取り除き、コーティング作業は終了する。コーティングしたフラスコはキャップを堅く閉め、4℃に保存する。2 週間以内に使用する。

5. 細胞の溶解

① 溶解した細胞を懸濁させるための培地10mlを、15ml遠心チューブに分注し、氷冷しておく。
② バイアルを取り出し、37℃恒温槽で急速に溶解する。
(注)このとき、液体窒素が噴出することがあるので、必ず保護具を着用して下さい。
また、コンタミの危険を避ける為、バイアルの蓋を水槽に漬けないようにして下さい。
③ バイアル内に氷塊が少し残る程度になれば、バイアルを氷中に戻す。
(注)細胞生存率が低下する原因になりますので、必要以上の加温は避けて下さい。
④ バイアル中の細胞液全量(約1ml)を、①の浮遊用培地が入った遠心チューブに穏やかに移し、懸濁する。
(注)凍結液には DMSO が入っています。急速に希釈・懸濁すると、細胞生存率が低下する原因になります。
穏やかに操作して下さい。
⑤ 浮遊細胞を冷却低速遠心機で4℃、200g、5分間 遠心する。
⑥ 沈殿した細胞を吸わないように注意しながら上清を吸引し、約1mlの培地に再懸濁させる。
⑦ 予め 13ml の培地を入れておいた T-75 フラスコに、⑥の細胞浮遊液、全量を植え込む。

6. 培地交換

培地交換は1日おきに行います。

① 調製した培地を必要量だけ37℃あるいは室温に温める。
② クリーンベンチ内でフラスコから古い培地を吸引除去し、①の培地を入れる。

※ *培地量は、T-25フラスコ／φ60mmシャーレでは5ml、T-75フラスコ／φ100mmシャーレでは15mlが適量*

です。

7. 細胞の継代培養

細胞が80%コンフレントな状態に達したら、下記要領（T-75 フラスコの例）に従い細胞を回収します。

予め、サブカルチャー試薬を4℃の冷蔵庫に移し、一晩置いて解凍し、均質になるよう数回撹拌しておきます。

（トリプシン/EDTA 溶液は4℃で2週間安定です。分割して使用する場合は、最初に解凍した際に必要量ずつ分注し、-20℃で保存してください）

トリプシン処理は、室温で行い、試薬を37℃に保温しないようにしてください。

① クリーンベンチ内にて、細胞を培養しているフラスコから培地を吸引除去する。
② HBSS で、細胞接着面を洗浄する。洗浄後、HBSS は吸引除去する。
③ T-75 フラスコにトリプシン/EDTA 溶液5mlを入れる。直ちに、フラスコを揺らし、トリプシン/EDTA 溶液をフラスコ培養面全体にいきわたらせる。
④ 直ちにトリプシン/EDTA 溶液4.5mlを除去する。
⑤ フラスコのキャップを閉め、細胞がトリプシン消化される過程を、室温で顕微鏡にて観察する。通常は1～3分程度で細胞が丸くなってくる。過消化に注意する。
⑥ フラスコの側面、底面を手のひらで叩き、細胞を十分はがす。
⑦ 5mlのトリプシン中和液を加える。直ちに、フラスコを揺らし、トリプシン中和液をフラスコ培養面全面にいきわたらせ、トリプシン反応を停止させる。
⑧ 細胞浮遊液を50ml滅菌遠心チューブに回収する。
⑨ T-75 フラスコに5mlのトリプシン中和液を加えてフラスコ培養面全体を濯ぎ、この液を⑧のチューブに加える。
⑩ 顕微鏡で確認し、20%以上の細胞がフラスコに残っている場合は、②-⑨を繰り返す。
⑪ 冷却低速遠心機にて220g、5分間遠心し、細胞を沈殿させる。
⑫ 細胞を吸わないように注意しながら、上清を吸引除去する。
⑬ 指でチューブ先端を軽くたたき、ペレットをほぐす。
⑭ 増殖培地 2mlを加え、穏やかにピペッティングし、細胞を再浮遊させる。
⑮ 血球計算盤あるいはセルカウンターで細胞数を計測する。このとき、トリパンブルーによる細胞生存率の測定を行うと、より正確な生細胞数を把握することができる。
⑯ 細胞浮遊液を予め用意したフラスコに細胞浮遊液、及び増殖培地を入れる。インキュベーターに入れ、培養を行う。細胞継代後、2時間（細胞の接着が安定するまで）は静置させる。培養は 37℃、5% CO_2、加湿で行う。
⑰ 1日後、培地の交換を行う。以後、1日おきに培地の交換を行う。

※ 細胞の継代は、2,000cell/cm^2 の密度で播種するのが目安です。従って、T-25 フラスコ／φ60mm シャーレには 0.5x10^{5}cell、T-75 フラスコ／φ100mm シャーレには 1.5x10^{5}cell が最適です。また、培地量は T-25 フラスコ／φ60mm シャーレでは 5ml、T-75 フラスコ／φ100mm シャーレでは 15ml が適量です。

ご注意

- **本製品の使用は研究用に限定されています。ヒトまたは動物への適用及び臨床診断用への使用はできません。**
- **本製品はHBV, HCV, HIVについてはｳｲﾙｽ検査を行い、混入否定を確認しておりますが、ヒト由来ですので細胞の取扱には十分にご注意下さい。**
- **本製品によって生じたいかなる事故あるいは損害についても弊社では責任を負いかねます。ご了承の上、ご使用下さい。**

本製品に関してご不明な点、ご質問等ございましたら、Toyoboテクニカルラインまでご連絡下さい。

＜連絡先＞ Tel:06-6348-3888、 Fax:06-6348-3833、 E-mail:tech_osaka@toyobo.jp

---

◆ 製造元:

Cell Applications Inc. (USA)

◆ 輸入販売元:

東洋紡績株式会社

（大阪）ライフサイエンス事業部 〒530-8230 大阪市北区堂島浜二丁目2番8号
Tel:06-6348-3786、 Fax:06-6348-3883

（東京）ライフサイエンス事業部 〒103-8530 東京都品川区東五反田二丁目10 番2号
東五反田スクエア
Tel:03-6422-4819、 Fax:03-6422-4951